

In silico study of Echinochrome-A, Spinochrome-A, and Echinamine-A compounds in *Echinometra mathaei* in inhibiting the maltase-glucoamylase enzyme as an antidiabetic.

Studi in silico senyawa Echinochrome-A, Spinochrome-A, and Echinamine-A pada *Echinometra mathaei* dalam menghambat enzim maltase-glucoamylase sebagai antidiabetes.

Intan Prasetyanti ^{a*}, Angelica Kresnamurti ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia.

*Corresponding Authors: intankp@hangtuah.ac.id

Abstract

DM can be caused by the release and absorption of glucose in the small intestine by digestive enzymes. Inhibition of this enzyme can help manage DM. Human Maltase-glucoamylase (MGA) is an enzyme in the small intestine that is responsible for catalyzing the release of glucose from carbohydrate digestion. By inhibiting this enzyme, it is hoped that glucose in type 2 diabetes patients can be controlled. Analyze the potential of Echinochrome-A, Spinochrome-A, and Echinamine-A in *Echinometra mathaei* extract as an antidiabetic using molecular docking. Molecular docking using Echinochrome-A, Spinochrome-A, Echinamine-A as a compound test and Miglitol as standard for the Human Maltase-glucoamylase receptor. Echinochrome-A, Spinochrome-A, and Echinamine-A has an affinity and hydrogen bonds with amino acid residues that are not significantly different from Miglitol, so that Echinochrome-A, Spinochrome-A, and Echinamine-A has potential as an antidiabetic.

Keywords: Molecular docking, Sea urchin, Echinochrome-A, Spinochrome-A, Echinamine-A, *Echinometra mathaei*, Human maltase-glucoamylase.

Abstrak

DM dapat disebabkan oleh adanya pelepasan dan penyerapan glukosa di usus kecil oleh enzim pencernaan. Penghambatan enzim tersebut dapat membantu pengelolaan DM. Human Maltase-glucoamylase (MGA) merupakan salah satu enzim pada usus kecil yang bertanggungjawab untuk mengkatalisis pelepasan glukosa dari pencernaan karbohidrat. Dengan menghambat enzim ini diharapkan glukosa pada pasien diabetes tipe 2 dapat terkontrol. Menganalisis potensi Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A pada ekstrak *Echinometra mathaei* sebagai antidiabetes dengan menggunakan molekular doking. Molekular doking menggunakan Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A sebagai senyawa uji dan Miglitol sebagai pembanding terhadap reseptor Human Maltase-glucoamylase (3CTT). Echinochrome-A, Spinochrome-A, Echinamine-A memiliki afinitas dan ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang tidak berbeda signifikan dengan Miglitol, sehingga Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A berpotensi sebagai antidiabetes.

Kata Kunci: Molekular doking, Sea urchin, Echinochrome-A, Spinochrome-A, Echinamine-A, *Echinometra mathaei*, Human maltase-glucoamylase.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 01/03/2024,
Revised: 01/04/2024
Accepted: 01/04/2024
Available Online : 30/06/2024

QR access this Article

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v7i2.476>

Pendahuluan

Penyakit Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit kronis yang disebabkan karena pankreas tidak cukup memproduksi insulin (DM tipe 1) atau ketika tubuh tidak dapat efektif menggunakan insulin yang sudah diproduksi (DM tipe 2). Menurut World Health Organization (WHO) jumlah penderita DM semakin meningkat setiap tahunnya, hal tersebut dapat dilihat dari data antara tahun 2000 hingga 2019 terdapat 3% kenaikan jumlah kematian karna DM [1]. Pedoman terapi terhadap penyakit DM adalah dengan memberikan insulin untuk terapi DM tipe 1, dan pemberian obat golongan sulfonilurea, meglitinide, biguanide, thiazolidinedion, inhibitor SGLT-2, inhibitor glukosidase, inhibitor DPP-4, incretin, agonis reseptor GLP-1. Pemilihan obat DM tipe 2 disesuaikan dengan kondisi dari pasien dimana selama 3 bulan diamati, jika tidak terdapat penurunan glukosa darah maka pasien diberikan obat dengan golongan yang lain [2]. Pelepasan dan penyerapan glukosa di usus kecil oleh enzim pencernaan alpha amilase dan alpha glukosidase dari karbohidrat dan lemak yang dikonsumsi dapat meningkatkan glukosa darah. Oleh sebab itu penghambatan enzim pencernaan tersebut dapat membantu pengelolaan DM [3].

Penelitian terkait bahan alam sumber daya dari laut masih sangat terbatas untuk antidiabetes. Indonesia adalah negara yang memiliki kekayaan sumber daya laut. Contohnya adalah bulu babi dengan nama latin *Echinometra mathaei* kelas Echinoidea. Pada bulu babi, terdapat Gonad yang mengandung Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A [4, 5, 6]. Pengujian ekstrak etanol 70% bulu babi sebagai antidiabetes pernah dilakukan terhadap tikus yang telah diinduksi aloksan, hasilnya menunjukkan bahwa tikus tersebut mengalami penurunan kadar glukosa darah. Potensi ekstrak bulu babi sebagai antidiabetes dibuktikan dengan pemberian ekstrak etanol 70% *Echinometra mathaei* dengan dosis 400 mg/kg BB pada tikus yang telah diinduksi aloksan. Penurunan glukosa darah tersebut karena mekanisme kerja antioksidan yang dapat menurunkan laju peningkatan glukosa darah [7, 8, 9].

Molekular doking merupakan metode komputer yang menyediakan informasi terkait interaksi intermolekular protein, asam nukleat, lemak dan ligan [10]. Tujuannya adalah untuk mengoptimasi konformasi dari protein dan ligan dengan energi bebas yang minimal. Penelitian menggunakan molekular doking merupakan pendekatan untuk studi penemuan obat baru dimana hal tersebut dapat mengurangi biaya dan waktu [11,12] Human Maltase-glucoamylase (MGA) dengan kode PDB ID: 3CTT merupakan salah satu reseptor enzim α -glukosidase pada saluran intestinal yang bekerja bersama sukrose-isomaltase dan α -amilase dalam metabolisme karbohidrat dan memecahnya menjadi glukosa. Dengan menghambat enzim ini diharapkan terjadi penghambatan peningkatan glukosa dalam darah karena jalur pencernaan pati dapat tertunda sehingga produksi glukosa pada pasien diabetes tipe 2 dapat terkontrol [13, 14].

Pada pengujian molekular doking kali ini, ingin diketahui apakah ekstrak bulu babi yang mengandung Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A memiliki afinitas terhadap reseptor alpha glukosidase sehingga diuji menggunakan protein target MGA dan dibandingkan hasilnya dengan Miglitol sebagai ligan pembanding untuk memastikan proses dan hasil doking berjalan dengan baik serta untuk mengetahui potensinya sebagai kandidat obat antidiabetes. Miglitol disetujui oleh FDA (Food and Drug Administration) sejak tahun 1996 sebagai obat golongan inhibitor α -glukosidase. Mekanisme kerja obat antidiabetes golongan ini adalah dengan cara menghambat α -glukosidase yang berperan dalam mengubah karbohidrat kompleks menjadi monosakarida pada saluran pencernaan. Dengan kata lain obat golongan ini memperlambat penyerapan glukosa dan cocok digunakan untuk terapi pada pasien dengan DM tipe-2. Namun terdapat efek samping obat yang pernah dilaporkan adalah nyeri perut, diare dan flatulen [15].

Berdasarkan hal tersebut, penting untuk melakukan pencarian dan pengembangan bahan alam terutama yang berasal dari biota laut atau *marine* yang berpotensi sebagai antidiabetes golongan α -glukosidase.

Metode Penelitian

Hardware

Komputer dengan spesifikasi: Intel(R) Core(TM) i3-10110U processor (CPU) @ 2.10GHz 8.00 GB Random Acces Memory (RAM) Windows 11.

Software

ChemDraw 22.0, Chem3D 22.0, AutoDockTools 1.5.7 (The Scripps Research Institute, USA), Protein Data Bank online tool (<https://www.rcsb.org>) dan BIOVIA Discover Studio 2020.

Struktur 3D

Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A sebagai ligan/senyawa uji. Miglitol sebagai ligan pembanding, makromolekul 3CTT (Human Maltase-glucoamylase).

Preparasi makromolekul

3CTT (Human Maltase-glucoamylase) didapatkan dari pencarian pada situs <https://www.rcsb.org/> (Protein Data Bank) kemudian di *download*, dioptimasi, dan dilakukan pemisahan residu.

Preparasi ligan

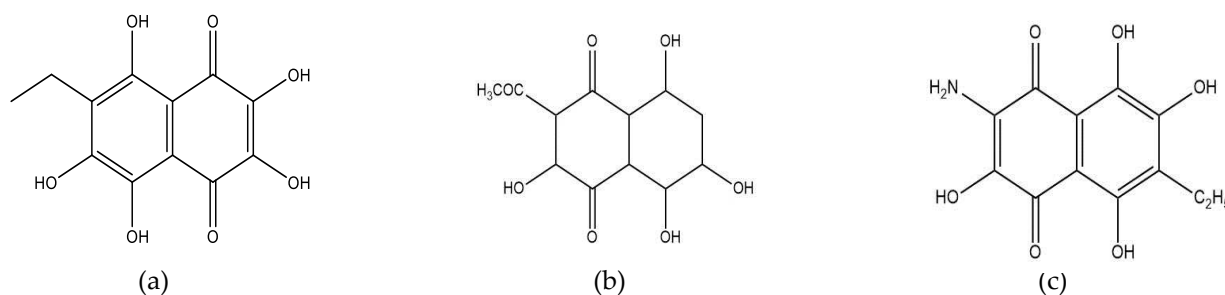
Ligan yang digunakan adalah Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A struktur 2Dnya dapat dilihat pada (Gambar 1). Ligan tersebut dikopi dalam bentuk SMILES dengan menggunakan ChemDraw 22.0 yang kemudian dikonversi ke dalam bentuk 3D menggunakan Chem3D 22.0. Struktur tersebut kemudian dilakukan optimasi dengan menambahkan hidrogen, dan penambahan muatan.

Doking

Senyawa uji yang digunakan adalah Echinochrome-A, Spinochrome-A, Echinamine-A. Pembanding yang digunakan adalah Miglitol, obat ini diakui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) sebagai obat yang dapat diberikan dalam terapi diabetes. Molekular doking menggunakan AutoDockTools 1.5.7. Koordinat *binding site* dari makromolekul adalah $x = 1.069$; $y = -16.151$; $z = 20.57$ dengan ukuran box $40 \times 40 \times 40$ unit.

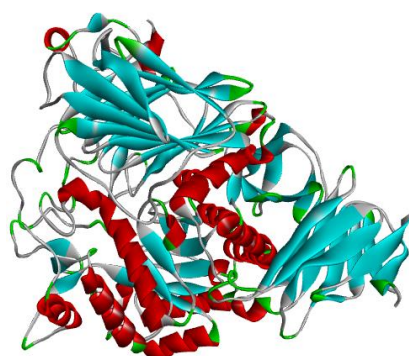
Hasil dan Diskusi

Makromolekul MGA (Gambar 2) diunduh dengan kode PDB: 3CTT yang berikatan dengan ligan kokristal Casuarine dengan kode 3CU. Reseptor ini disiapkan dengan menghilangkan bagian reseptor lain yang tidak digunakan, menghilangkan air, menghilangkan ligan kokristal dengan tujuan agar tidak mengganggu proses doking molekular. Hal lain yang perlu dilakukan adalah menambahkan hidrogen polar, memperbaiki atom yang hilang dan menambahkan atom dan muatan. Itu semua perlu dilakukan agar dapat menghasilkan afinitas yang baik dan membentuk interaksi yang stabil [16]. Identifikasi terhadap sisi aktif makromolekul dilakukan menggunakan ProteinPlus online tool dengan cara memasukkan makromolekul (format .pdb) dan didapatkan hasil terbaik dengan *drug score* tertinggi yaitu 0,84 pada *pocket* rantai B (Gambar 3). Poket molekul dapat digunakan dengan persyaratan RMSD $< 2 \text{ \AA}$ yang artinya semakin rendah nilai resolusi reseptor, strukturnya semakin baik [17, 18]. Nilai RMSD dari penelitian ini adalah $0,708 \text{ \AA}$ yang artinya protokol doking dapat diterima atau dinyatakan valid sehingga dapat digunakan untuk proses doking lebih lanjut. Ligan Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A yang berikatan di *active side* poket protein Maltase-glucoamylase dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 1. Struktur 2D (a) Echinochrome-A, (b) Spinochrome-A, dan (c) Echinamine

Proses selanjutnya adalah dengan mempersiapkan ligan uji dan ligan pembanding yang akan digunakan untuk proses doking. Ligan ujinya yaitu Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A dan ligan pembanding yang digunakan adalah Miglitol. Miglitol merupakan obat antidiabetes golongan inhibitor glukosidase dengan mekanisme kerja menghambat penyerapan karbohidrat dengan memperlambat penyerapan glukosa pada saluran pencernaan sehingga cocok digunakan untuk terapi diabetes tipe-2 [19]. Analisis serta visualisasi interaksi antara makromolekul dan ligan menggunakan BIOVIA untuk mengetahui ikatan hidrogen dan ikatan *van der waals*.

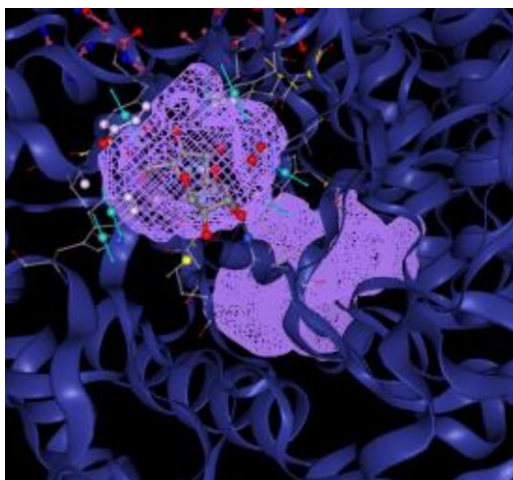


Gambar 2. Struktur-3D Maltase-glucoamylase (MGA)

Dalam interaksi tersebut dapat pula diketahui nilai *estimated binding energy* (ΔG) yang digunakan untuk memprediksi afinitas interaksi ligan pada reseptor dan *estimated inhibition constant* (K_i) digunakan untuk memprediksi pada proses analisis in-vitro selanjutnya, dalam hal ini kaitannya dengan kemampuan enzim sebagai inhibitor. Semakin rendah nilai ΔG dan nilai K_i maka afinitas ligan tersebut semakin tinggi [20]. Nilai tersebut dapat dilihat pada Tabel 1. Pada tabel tersebut terlihat bahwa Echinochrome-A memiliki ΔG yang paling negatif yaitu -8,55 kcal/mol, hal tersebut menunjukkan bahwa afinitas dengan reseptor Maltase-glucoamylase paling tinggi dibanding dengan ligan uji lainnya yang memiliki ΔG -7,96 kcal/mol (Spinochrome-A) dan ΔG -6,41 kcal/mol (Echinamine-A). Jika dibandingkan dengan ΔG ligan pembanding (Miglitol) yang memiliki nilai -9,86 kcal/mol terlihat bahwa sebenarnya nilai ΔG ligan uji tersebut tidak begitu jauh nilainya, dengan kata lain baik senyawa uji dan pembanding memiliki estimasi afinitas yang tidak terpaut jauh atau hampir sama terhadap reseptor yang digunakan. Untuk nilai K_i dari ligan uji Echinamine-A dan Spinochrome-A yang memiliki nilai K_i 1,46 μM dan 19,89 μM terlihat bahwa nilainya lebih kecil daripada Miglitol (59,52 μM), artinya hal tersebut menunjukkan bahwa ligan uji Echinamine-A dan Spinochrome-A memiliki estimasi sebagai enzim inhibitor yang lebih baik pada reseptor yang digunakan dibandingkan dengan ligan pembanding. Nilai K_i Echinochrome-A lebih besar dibanding dengan senyawa uji ataupun senyawa pembanding yaitu 542,65 μM dikarenakan senyawa tersebut merupakan suatu polyhydroxy naphthoquinone yang memiliki aktivitas antidiabetes dengan mekanisme antioksidan. Dimana mekanisme hipoglikeminya adalah dengan cara menghambat atau memperlambat kerusakan sel β -pankreas yang ditimbulkan karena stres oksidatif. Seperti diketahui bahwa stres oksidatif dapat meningkatkan potensi timbulnya penyakit kanker, diabetes dan penyakit degeneratif lainnya [21,22]. Dengan demikian

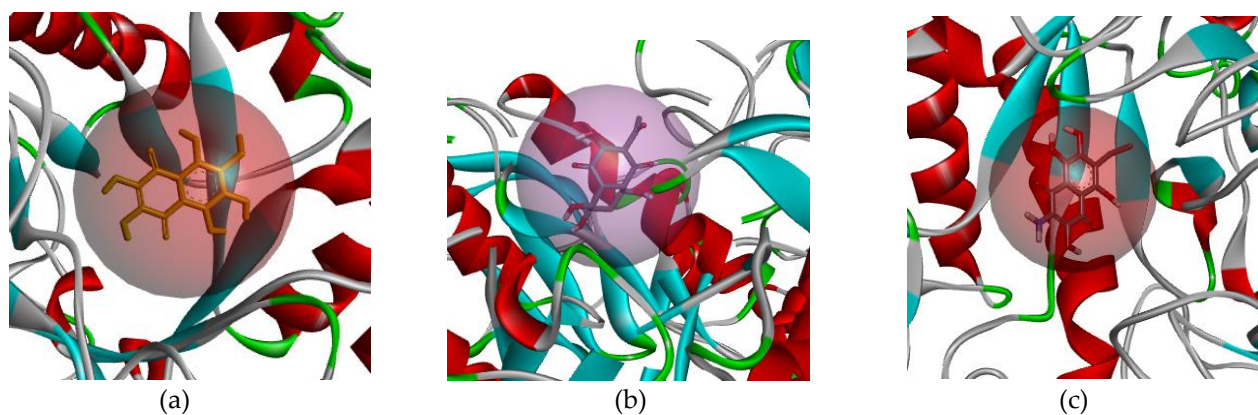
kemungkinan besar senyawa Echinochrome-A memiliki afinitas yang tinggi pada reseptor MGA namun prediksi untuk hambatan terhadap enzim α -glukosidasenya lebih rendah dibanding senyawa uji yang lain.

Dalam penelitian ini dilakukan interaksi antara ligan dan reseptor menggunakan BIOVIA untuk mengetahui ikatan hidrogen dan residu asam amino yang dapat dilihat pada (Gambar 5). Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara atom hidrogen dengan atom elektronegatif (O, N, F). Ikatan hidrogen juga berpengaruh terhadap afinitas dari ligan pada reseptor karena interaksi elektrostatik antara oksigen dan nitrogen dari ligan dan atom hidrogen dari asam amino [23]. Lebih banyak ikatan yang terjadi dari senyawa pembanding dan senyawa uji maka lebih baik. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan uji dan pembanding tidak berbeda signifikan karna memiliki sejumlah residu asam amino yang sama. Residu asam amino yang sama menunjukkan kesamaan interaksi dengan kata lain menunjukkan semakin tinggi probabilitas ligan/senyawa uji untuk memiliki aktivitas yang sama dengan ligan *cocrystal* [24].



Gambar 3. Hasil identifikasi sisi aktif *pocket* makromolekul Maltase Glucoamylase pada Protein Plus *online tool*. Warna ungu pekat (sisi aktif *pocket*) dan warna ungu (ligan *native* 3CU)

Ikatan hydrogen, residu asam amino dan jarak ikatan dari ligan uji dan pembanding dapat dilihat dari Tabel II. Ada 4 ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang sama antara senyawa uji dan pembanding yaitu residu Arg526, Asp542, His600, Asp 327. Echinochrome-A memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino yaitu Asp443 (1.83 Å), Arg526 (2.99 Å), Asp542 (2.57 Å), His600 (1.85 Å), Asp327 (1.79 Å). Spinochrome-A memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino yaitu Asp443 (2.19 Å), Arg526 (1.86 Å), His600 (1.91 Å), Asp327 (1.99 Å) dan ikatan van der waals dengan residu asam amino Asp542 (3.48 Å). Echinamine-A memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino yaitu Arg526 (2.09 Å), Asp542 (2.14 Å), His600 (2.18 Å), Asp327 (2.42 Å), Asp203 (2.80 Å). Senyawa pembanding Miglitol memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang terbentuk adalah Asp443 (2.00 Å), Arg526 (2.39 Å), Asp542 (3.22 Å), His600 (1.85 Å), Asp327 (1.97 Å), Asp203 (2.34 Å). Dimana hasil residu asam amino senyawa pembanding tersebut memiliki kesamaan dengan senyawa uji. Persamaan asam amino yang terbentuk antara ligan uji dan pembanding tersebut menunjukkan bahwa ligan uji memiliki probabilitas tinggi akan memiliki aktivitas yang sama dengan senyawa ujinya dan memiliki ikatan yang stabil pada sisi aktif *pocket* makromolekul MGA [25, 26].



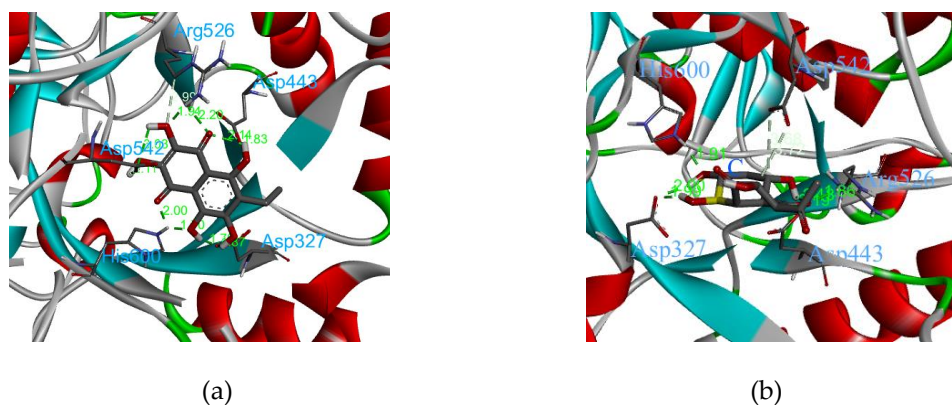
Gambar 4. Ligan (a) Echinochrome-A, (b) Spinochrome-A, dan (c) Echinamine-A yang berikatan di *active side* poket protein Maltase-glucoamylase.

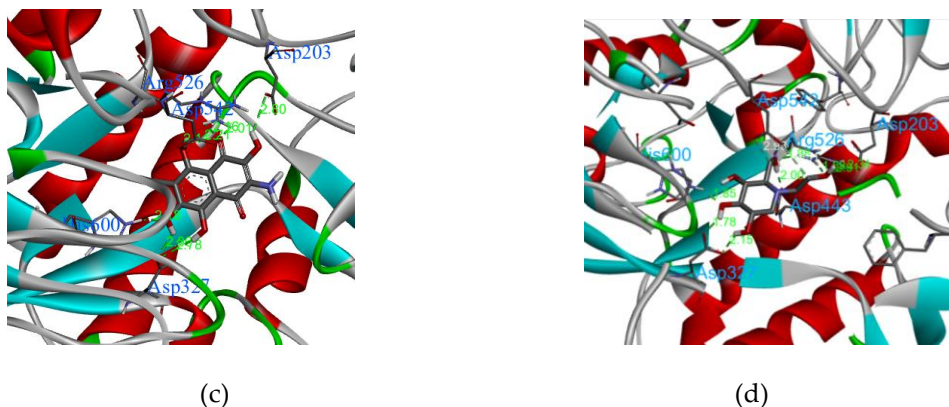
Tabel 1. *Binding energy* (ΔG) dan *inhibition constant* (K_i) hasil molekular doking Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A serta ligan pembanding Miglitol.

Senyawa	ΔG (kcal/mol)	K_i (μM)
Echinochrome-A	-8,55	542,65
Spinochrome-A	-7,96	1,46
Echinamine-A	-6,41	19,89
Miglitol	-9,86	59,52

Tabel 2. Ikatan hidrogen dan residu asam amino dari ligan uji dan pembanding

Compound	Asp443	Arg526	Asp542	His600	Asp327	Asp203
Echinochrome-A	1.83 Å	2.99 Å	2.57 Å	1.85 Å	1.79 Å	-
Spinochrome-A	2.19 Å	1.86 Å	3.48 Å	1.91 Å	1.99 Å	-
Echinamine-A	-	2.09 Å	2.14 Å	2.18 Å	2.42 Å	2.80 Å
Miglitol	2.00 Å	2.39 Å	3.22 Å	1.85 Å	1.97 Å	2.34 Å





Gambar 5. Ikatan hidrogen asam amino dari ligan (a) Echinochrome-A, (b) Spinochrome-A, (c) Echinamine-A dan (d) Miglitol

Kesimpulan

Pada penelitian menunjukkan bahwa Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A yang terkandung dalam ekstrak bulu babi memiliki potensi sebagai antidiabetes. Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A sebagai senyawa uji memiliki hasil *estimated binding energy* (ΔG), *estimated inhibition constant* (K_i) dan ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang tidak berbeda signifikan dengan pembanding Miglitol pada reseptor Maltase glucoamylase. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak bulu babi yang mengandung senyawa Echinochrome-A, Spinochrome-A, dan Echinamine-A berpeluang untuk dikembangkan sebagai obat antidiabetes dengan didukung pengujian lebih lanjut seperti uji in-vitro maupun uni in-vivo.

Conflict of Interest

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh Universitas Hang Tuah

Supplementary Materials

Referensi

- [1] World Health Organization. (2010). *The World Health Report 2010*. Available online from: <http://www.who.int/whr/2010/en/index.html> [Accessed October 09, 2023].
- [2] Depkes RI. (2005). *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta. Departemen Kesehatan RI.
- [3] Muchtaridi, M., Dermawan, D., & Yusuf, M. (2018). Molecular docking, 3D structure-based pharmacophore modeling, and ADME prediction of alpha mangostin and its derivatives against estrogen receptor alpha. *Journal of Young Pharmacists*. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.58>
- [4] Rui Kuwahara. (2009). Antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from shells of purple sea urchin *Anthocardaris crassispina*. *LWT - Food Science and Technology*, 42(7), 11296–11300.
- [5] Kalinin VI. Echinoderms Metabolites: Structure, Functions, and Biomedical Perspectives. *Mar Drugs*. 2021;19(3):125. doi:10.3390/md19030125
- [6] Brasseur, L., Demeyer, M., Decroo, C., Caulier, G., Flammang, P., Gerbaux, P., & Eeckhaut, I: Identification and quantification of spinochromes in body compartments of *Echinometra mathaei*'s coloured types. *Royal Society open science*. 2018; 5(8): 171213.
- [7] Kresnamurti, A., Suresti, S., & Sahrial Hamid, I. (2021.). Uji Aktivitas Antihiperglikemia Ekstrak Etanol 70% *Echinometra Mathaei* pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan (Hiperglycemia Activity of

- 70% Ethanol Extract of Echinometra Mathaei in Male Wistar Rat Induced by Alloxan). *Journal of Herbal Clinical and Pharmaceutical Sciences*. <http://dx.doi.org/10.30587/herclips.v2i1.2210>
- [8] Mohamed, E. A. H., Yam, M. F., Ang, L. F., Mohamed, A. J., & Asmawi, M. Z. (2013). Antidiabetic Properties and Mechanism of Action of Orthosiphon stamineus Benth Bioactive Sub-fraction in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 6(1), 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.jams.2013.01.005>
- [9] Lestiono, Kresnamurti, A., Asyori, M. R. (2021.). Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Bulu Babi (Echinometra Mathaei) Pada Mencit Putih Jantan. Analgesic Activity of Sea Urchin Ethanol Extract (Echinometra mathaei) in white male mice. *Journal of Herbal Clinical and Pharmaceutical Sciences*.
- [10] AM Soliman, A. M. M. M. (2016). Comparative Study between the Hypoglycemic and Antioxidant Effects of Echinochrome on Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus. *Research & Reviews: Research Journal of Biology*, 4(3).
- [11] Kris Prasetyanti, I. (2021). Molecular Docking of Mangostin and Sinensetin Derivatives on SUR1-Pancreatic KATP Channel Target as Antidiabetic. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(3), 272. <https://www.rcsb.org>
- [12] Prasetyanti, I. K., Sukardiman, & Suharjo. (2021). Admet prediction and in silico analysis of mangostin derivatives and sinensetin on maltase-glucoamylase target for searching anti-diabetes drug candidates. *Pharmacognosy Journal*, 13(4), 883–889. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.113>
- [13] Cardona F, Parmeggiani C, Faggi E, Bonaccini C, Gratteri P, Sim L, et al. Total Syntheses of Casuarine and Its 6-O- α -Glucoside: Complementary Inhibition towards Glycoside Hydrolases of the GH31 and GH37 Families. *Chemistry A European Journal*. 2009;15:1627-36.
- [14] Okur, M. E., Karantas, I. D., Hospital, H. G., & Siafaka, P. (2017). Diabetes Mellitus : A Review on Pathophysiology , Current Status of Oral Diabetes Mellitus : A Review on Pathophysiology , Current Status of Oral Medications and Future Perspectives. April. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.0555>
- [15] Santos, C. M. M., Freitas, M., & Fernandes, E. (2018). Review Article: A Comprehensive review on Xanthone Derivatives as α -glucosidase Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 157(2018), 1460- 1479.
- [16] Pagadala, N.S., Syed, K., & Tuszyński, J: Software for molecular docking: a review. *Biophysical Reviews*. 2017; 9(2): 91-102.
- [17] Manurung, K., Sulastris, D., Zubir, N., & Ilyas, S. (2020). In silico anticancer activity and in vitro antioxidant of flavonoids in plectranthus amboinicus. *Pharmacognosy Journal*, 12(6), 1573–1577. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.215>
- [18] Okur, M. E., Karantas, I. D., Hospital, H. G., & Siafaka, P. (2017). Diabetes Mellitus : A Review on Pathophysiology , Current Status of Oral Diabetes Mellitus : A Review on Pathophysiology , Current Status of Oral Medications and Future Perspectives. April. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.0555>
- [19] Mohamed, E. A. H., Yam, M. F., Ang, L. F., Mohamed, A. J., & Asmawi, M. Z. (2013). Antidiabetic Properties and Mechanism of Action of Orthosiphon stamineus Benth Bioactive Sub-fraction in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 6(1), 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.jams.2013.01.005>
- [20] Natesan, S., Subramaniam, R., Bergeron, C., & Balaz., S. (2012). Binding affinity prediction for ligands and receptors forming tautomers and ionization species inhibition of mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 (MK2). *Journal of Medicinal Chemistry*. 55(5), 2035-2047
- [21] Kesuma .S., dan Rina .Y. 2015. Antioksidan alami dan sintetik.cetakan 1. Padang : Andalas university press.
- [22] Soeksmanto, A., Y. Hapsari, P. Simanjuntak. 2007. Kandungan antioksidan pada beberapa bagian tanaman mahkota dewa, Phaleria macrocarpa (Scheff) Boerl. (Thymelaceae). *Biodiversitas*. Vol 8 no 2. Hal 92-95.
- [23] Dubey, K., Dubey, R., Gupta, R., & Gupta, A: In-silico Reverse Docking Studies for the identification of potential of Betanin on some enzymes involved in diabetes and its complications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2019; 9(2-A): 72-74
- [24] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J : Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*. 1997; 23(1-3): 3-25.
- [25] Norel, R., Sheinerman, F., Petrey, D. & Honig, B. (2001). Electrostatic Contributions to Proteinprotein Interactions: Fast Energetic Filters for Docking and Their Physical Basis. *Protein Science*; 10; 2147-2161.
- [26] Miller, R. L., Thompson, A. A., Trapella, C., Guerrini, R., Malfacini, D., Patel, N., ...& Stevens, R. C. (2015). The importance of ligand-receptor conformational pairs in stabilization: spotlight on the N/OFQ G protein-coupled receptor. *Structure*. 23(12), 2291-2299.